

**WIRKUNG VON GLUKAGON AUF DIE ENZYME
DES KOHLENHYDRATSTOFFWECHSELS
IN DER LEBER VON RATTENFÖTEN UND
IN DER LEBER VON NEUGEBORENEN RATTEN**

Heidrun Allmaras

1977

Aus der Kinderklinik der Universität
im Dr. von Haunerschen Kinderspital

Direktor: Prof.Dr. K. Betke

WIRKUNG VON GLUKAGON AUF DIE ENZYME DES
KOHLENHYDRATSTOFFWECHSELS IN DER LEBER VON RATTENFÖTEN
UND IN DER LEBER VON NEUGEBORENEN RATTEN

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Heidrun ALLMARAS, geb. Lippert

aus Aussig

München 1976



Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin der Universität München

Dekan: Prof.Dr. K.Betke

Referent: Priv.Doiz.Dr. J.Schaub

Tag der mündlichen Prüfung: 14.4.1977

INHALTSVERZEICHNIS

Teil A: EINLEITUNG

I. Einleitung	1
II. Aufgabenstellung und Ziele	2
III. Methodik	3
IV. Ergebnisse	4
V. Diskussion	5
VI. Zusammenfassung	6
VII. Literaturverzeichnis	7

Meinen Eltern gewidmet

Teil B: THEORETISCHER HINTERGRUND

1. Einleitung	1
2. Theoretische Grundlagen	2
3. Empirische Grundlagen	3
4. Zusammenfassung	4
5. Literaturverzeichnis	5
6. Einleitung	6
7. Theoretische Grundlagen	7
8. Empirische Grundlagen	8
9. Zusammenfassung	9
10. Literaturverzeichnis	10
11. Einleitung	11
12. Theoretische Grundlagen	12
13. Empirische Grundlagen	13
14. Zusammenfassung	14
15. Literaturverzeichnis	15

Teil C: ERGEBNISSE

I. Ergebnisse	1
II. Diskussion	2
III. Zusammenfassung	3
IV. Literaturverzeichnis	4

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

Teil A: EINLEITUNG

I. Glukagon	1
II. Wirkmechanismus von Glukagon auf den KH-Stoffwechsel der erwachsenen Ratte	1
III. Situation des KH-Stoffwechsels in der fötalen Rattenleber	3
IV. Situation des KH-Stoffwechsels bei der Geburt eines Rattenföten	5
V. Problemstellung	6

Teil B: EIGENE UNTERSUCHUNGEN

I. Material und Methode	7
II. Statistik	12
III. Abkürzungsverzeichnis	14
IV. Versuche und Ergebnisse - Tabellen und Kurven	16
1. Glucose-6-phosphatdehydrogenase	17
2. 6-Phosphogluconat-Dehydrogenase	18
3. Phosphoglucomutase	19
4. Phosphoglucoisomerase	20
5. Fruktose 1,6 Diphosphatase	21
6. Fruktose-6-Phosphat-Kinase	22
7. Hexokinase	23
8. Amylo-1,6-Glucosidase	24
9. Lysosomale α -Glucosidase	25
10. Glucose-6-Phosphatase	26
11. Phosphorylase	27
12. Glykogensynthetase	29

Teil C: DISKUSSION

I. Ergebnisse eigener Versuche in Bezug zu anderen Arbeiten über Glukagonwirkung in der fötalen Rattenleber	32
II. Zusammenfassung	36
III. Literaturverzeichnis	38

A) EINLEITUNG

I. Glukagon

Glukagon ist ein Hormon, das in den α -Zellen der Langerhans'schen Inseln des Pankreas produziert wird.

Nach heutiger Kenntnis wird es erst bei der Geburt sezerniert. Es hat glykogenolytische und gluconeogenetische Wirkung.

Plasmaglukagon steigt bei Hypoglycämie und Hunger an und fällt bei Hyperglycämie ab.

Glukagon stimuliert direkt eine Freisetzung von Insulin (28) und wirkt als Antagonist zu Insulin.

II. Wirkmechanismus von Glukagon auf den KH-Stoffwechsel der erwachsenen Ratte

Die normale physiologische Wirkung des Glukagons auf die Vorgänge im KH-Stoffwechsel der Erwachsenenleber stellt sich im einzelnen folgendermaßen dar (14 A).

Glykogenspaltung

Glukagon	Kinasen	Phosphorylase a	H ₂ O	Glucose
		Synthetase b		Prednison
		G-6-P abhängig	Phosphatase	Glucocorticoide
AMP				
Adrenalin	ATP	Phosphorylase b	P	
		Synthetase a		

Glykogensynthese

Die Glykogensynthese in der Leber läuft der Aktivität der Glykogensynthetase parallel. Der Glykogenabbau wird unter anderem durch die Aktivität der Phosphorylase kontrolliert. Beide Enzyme existieren in zwei Formen, einer aktiven und einer inaktiven Form, die durch Dephosphorylierung und Phosphorylierung ineinander umwandelbar sind. Glukagon, cycl. AMP und Adrenalin stimulieren die Umwandlung der Phosphorylase in seine aktive Form, Glykogensynthetase wird dabei in Gegenwart von ATP inaktiviert. Phosphosynthetase (b) benötigt in vitro für seine Aktivität G-6-P. Es ist völlig inaktiv in Gegenwart physiologischer Konzentrationen von anorganischem Phosphat, während das Dephosphoenzym (a) unter gleichen Bedingungen aktiv ist. Die eine Form des Enzyms ist deshalb inaktiv und die andere aktiv, egal, welche Konzentration von G-6-P vorliegt. Glucose und Glucocorticoide stimulieren den Übergang der Glykogensynthetase in seine aktive Form.

SUTHERLAND und CORI (8) beobachteten als Erste, daß Adrenalin und Glukagon eine Aktivierung von Phosphorylase in Leberschnitten bewirken. Der Anstieg an Enzymaktivität ist dem Wechsel in Glucoseproduktion proportionsgemäß viel kleiner.

Er verhält sich in vivo etwa 2 : 20. Der Konzentrationsanstieg von cycl. AMP in der Leber nach Gabe einer kleinen Dosis Glukagon geht der Inaktivierung der Glykogensynthetase 1-2 Minuten voraus. Diese Reihenfolge zeigt, daß die Nucleotide in ihrer Rolle als Überträger in der Hormonfunktion an zweiter Stelle stehen.

III. Situation des KH-Stoffwechsels in der fötalen Rattenleber

In der fötalen Rattenleber wird Glykogen gespeichert. Diese Anhäufung des Leberglykogens beginnt erst ab 19. Fötal-Tag (10, 17). Nach den Messungen von HUNTER (17) erhöht sich ab diesem Tag der Glykogengehalt etwa um 20 - 40 mg/g/Tag und beträgt kurz vor der Geburt etwa 120 mg/g Leber. Das ist etwa zwei- bis dreimal so groß wie die Glykogenkonzentration der erwachsenen Rattenleber nach der Mahlzeit. Innerhalb von drei Stunden nach der Geburt wird dieser Glykogengehalt auf 10% seines vorgeburtlichen Gipfels reduziert und pendelt sich dann auf einen annähernd konstanten Wert ein.

GREENGARD und DEWEY (11) konnten ebenfalls einen erstmaligen Anstieg des fötalen Leberglykogens am 19. Fötal-tag bestätigen. Sie zeigten außerdem, daß der Leberglykogengehalt eines Rattenföten durch Gabe von Hydrocortison etwa zu verdoppeln ist und daß durch Dekapitierung hypophysektomierte Rattenembryos unfähig sind, Glykogen zu speichern und daß die Gabe von Glucocorticoiden die Glykogenspeicherung wieder in Gang bringt. Auch JOST (20) und viele andere Autoren konnten zeigen, daß die Glykogenspeicherung in der späten fötalen Rattenleber von adrenalcorticoiden Faktoren abhängig ist.

Der Glykogenabbau ist nur möglich in Gegenwart von Glukagon. Bei der erwachsenen Ratte hat sich gezeigt, daß die Hypoglykämie ein auslösender Faktor für die Freisetzung von Glukagon aus dem Pankreas und die Ausschüttung von Adrenalin aus der Hypophyse ist. Auch die Hypoglykämie des Neugeborenen bewirkt eine Glukagonsekretion (5, 10). Die Placenta stellt eine absolute Schranke für den Transport von mütterlichem Glukagon zum Föt dar und bewahrt dadurch das fötale Glykogen vor einem Abbau während der Intrauterinzeit. Indirekt konnten wir dies beweisen durch

Injektion großer Mengen Glukagons an die schwangere Ratte, was keinen Effekt auf den Gehalt des fötalen Leberglykogens hatte. R. CHEZ und andere (7) haben allerdings beim Affen einen plazentaren Transfer von markiertem Glukagon beobachtet. Dies ist nicht ganz verständlich, wenn man den hohen Glykogengehalt der Affenleber kurz vor der Geburt betrachtet. Auch beim Menschen ist bewiesen worden, daß mütterliches Glukagon nicht plazentagängig ist (19). GIRARD (10) u.a. haben ein erstes Auftreten von Glukagon am letzten Tag vor der Geburt im Rattenplasma gemessen. In ihren Messungen steigt das Plasmaglukagon vom Zeitpunkt der Geburt gesehen innerhalb von 30 Minuten bis zu einem maximalen Gipfel an und fällt in einem Zeitraum von etwa drei Stunden zu einem konstanten Wert ab.

D.J. HUNTER (17) hält ebenfalls eine Glukagonproduktion des Föten am Ende der Fötalzeit für möglich. Er hat keine Glukagonmessungen vorgewiesen, sondern schließt von der Insulinproduktion auf die von Glukagon. Denn Insulin hat man mit Hilfe von Immunofluoreszenztechnik in der fötalen Ratte drei Tage vor dem Auftreten von β -Zell Granula des Pankreas gemessen. α -Zell Granula lassen sich erst 10 - 24 Stunden nach der Geburt nachweisen. Als Parallele zu Insulin folgert er, daß Glukagon möglicherweise auch etwa drei Tage vor dem Erscheinen der α -Zell Granula produziert wird. Damit bringt er auch seine These in Zusammenhang, daß der Föt ab 21 1/2. Fötaltag die Fähigkeit entwickelt, Leberglykogen zu mobilisieren und dabei seinen Blutglucosespiegel unabhängig von der Mutter zu erhöhen.

IV. Situation des KH-Stoffwechsels bei der Geburt eines Rattenföten

Bei der Geburt hört die Glucoseversorgung durch die Mutter für den Föten auf. Der Blutzuckerspiegel des Neugeborenen fällt ab. Die daraus resultierende Hypoglykämie stimuliert Sekretion von Glukagon aus dem Pankreas. Phosphorylase wird aktiviert, Glykogensynthetase wird inaktiviert.

Glucose-6-Phosphatase steigt an. Gleichzeitig wird die Gluconeogenese durch Glukagon stimuliert und die Neusynthese der Phosphopyruvat-Carboxylase in Gang gesetzt. Die aktivierte Phosphorylase baut Glykogen ab und trägt so zur Normalisierung des Blutzuckerspiegels bei. YOUNG und OLIVER (30) (1968) weisen auf eine lineare Beziehung zwischen Aktivität der Phosphopyruvat-Carboxylase und dem Ausmaß der Glucosesynthese hin. Sie postulieren, daß die Gluconeogenese, die erst nach der Geburt einsetzt, zweifellos zur Behebung der postnatalen Hypoglykämie beiträgt, daß aber die Leberglykogenvorräte, die zur gleichen Zeit mobilisiert werden, mindestens einen gleich großen Beitrag zur Behebung der Hypoglykämie liefern. CAKE u.a. (6) legen das Hauptgewicht bei der Beseitigung der Neugeborenenhypoglykämie der Ratte mehr auf die Seite der Gluconeogenese als auf die Seite der Glykogenolyse. Sie gehen dabei von folgenden Meßdaten aus: Zwischen Blutglucosespiegel und Abfall des Leberglykogens besteht in den ersten sechs Stunden nach der Geburt keine Beziehung. Glukagon aktiviert zwar postnatal die Phosphorylase, die den Leberglykogenabbau stimuliert, durch Aktinomycin D wird dieser Effekt jedoch nicht beeinträchtigt. Aktinomycin D und Puromycin hemmen aber die Aktivierung der Phosphopyruvat-Carboxylase, die ebenfalls durch Glukagon postnatal zustande kommt. Ein gleichzeitiger Anstieg der Blutglucose findet jedoch nicht statt. Dieser Befund läßt sie zu dem Schluß kommen, daß die Regulierung der Blutglucose bei der neugeborenen Ratte hauptsächlich durch die Induk-

tion der Phosphopyruvat-Carboxylase-Synthese und damit der Gluconeogenese erfolgt. Die normale Entwicklung dieses Enzyms kann durch Injektion von Glucose bei der Geburt verhindert werden. Eine zur Glucose zusätzliche Injektion von Aktinomycin D steigert das Ausmaß der Hemmwirkung des Enzyms nicht. Bei gleichzeitiger Gabe von Glucose und Glukagon tritt keine Hemmung der aktivierenden Wirkung des Glukagons auf die Phosphopyruvat-Carboxylase auf. Diese Befunde interpretierten YOUNG und OLIVER (30) so: Aktinomycin allein ist für die Repression der Enzymsynthese verantwortlich, Glucose wirkt nicht als direkter Repressor, sondern behindert möglicherweise die Freisetzung von endogenem Glukagon, das physiologischerweise postnatal in Erscheinung tritt und die Aktivierung der Phosphopyruvat-Carboxylase in Gang setzt.

YOUNG und OLIVER (31) konnten weiterhin zeigen, daß zwar Glucose die Enzymentwicklung behindert, aber doch die Hypoglykämie behebt. Fruktose und Mannose dagegen beheben die Hypoglykämie nicht, unterdrücken aber ebenfalls die Synthese von Phosphopyruvat-Carboxylase und stimulieren zusätzlich Insulin aus dem Pankreas, also dem Antagonisten von Glukagon.

Galactose wirkt wie Fruktose und Mannose, stimuliert zwar keine Insulinproduktion, verhindert aber doch Glukagonfreisetzung.

V. Problemstellung

Dieser Arbeit liegt die Überlegung zugrunde, daß Faktoren, die den Stoffwechsel adulter Lebern beeinflussen, möglicherweise die gleiche Wirkung auf den Stoffwechsel fötaler Lebern haben. Es ist dadurch vielleicht möglich, einzelne Ergebnisse auf bestimmte Zeitpunkte innerhalb der fötalen Enzymentwicklung zu übertragen und Rückschlüsse auf die Art der Enzymentwicklung zu ziehen, wie etwa Aktivierung noch nicht meßbarer Enzyme oder Anregung der Proteinsynthese von Enzymen. Wir haben Untersuchungen durchgeführt, die Aussagen über das Verhalten der Enzyme des Glykogenabbaues und der Glucose-neubildung bei Gaben von Glukagon machen.

B) EIGENE UNTERSUCHUNGEN

I. Material und Methode

Als Versuchstiere wurden verwendet: Weibliche und männliche "Wistar"-Ratten (Rasse AF/Han) aus dem Zentralinstitut für Versuchstierzucht, 3000 Hannover-Linden, Lettow-Vorbeck-Allee 57.

Sie hatten ein Gewicht von 200 - 300 Gramm. Die Tiere wurden mit Altromin-Standard-Diät gefüttert und erhielten Wasser ad libitum. Jeweils ein weibliches und ein männliches Tier wurden zur Kopulation 24 Stunden lang zusammengebracht. Mitternacht wurde als Stunde der Befruchtung angenommen. Die trächtigen Ratten wurden mit einem kurzen Ätherrausch narkotisiert. Das Abdomen wurde durch Längsschnitt eröffnet und durch die Uteruswand wurde jedem Föten Glukagon in die Leibeshöhle injiziert. Als Glukagonpräparat fand das der Firma LILLY und NOVO Verwendung. Die Wunde beim Muttertier wurde wieder vernäht.

Die Tiere wachen nach 5 min auf und laufen im Käfig wieder herum. Nach einer Stunde wurden die Muttertiere durch Decapitierung getötet. Das Abdomen wurde eröffnet und die Föten entnommen. Diese wurden ebenfalls durch Decapitierung getötet. Dabei wurde kein Unterschied zwischen weiblichen und männlichen Föten gemacht. Sogenannte "small for dates" wurden verworfen. Die Lebern der Tiere wurden entfernt und entweder sofort verarbeitet oder tiefgefroren (-20°C) und später verarbeitet.

Die Lebern der Föten eines Wurfes wurden "gepooled". Die neugeborenen Ratten wurden ebenfalls durch Decapitierung getötet und die Leber entnommen. Hier genügt eine Leber für eine gesamte Versuchsreihe.

Insgesamt wurden für den Glukagonversuch etwa 50 trächtige Ratten, 500 Föten und 60 neugeborene Ratten für die Experimente benötigt.

Die Glukagon-Dosis ist bei den Föten und bei den neugeborenen Ratten bis zum 6. Lebenstag $50 \mu\text{g} / \text{Tier}$. Bei den neugeborenen Ratten, die älter sind als 6 Tage $100 \mu\text{g} / \text{Tier}$.

Die Tötung der Tiere erfolgte nach einer Stunde.

Als Kontrollkollektiv dienten Tiere, die kein Glukagon bekamen und die nicht operiert wurden. Die Verwendung dieses Kollektivs als Kontrolle war insofern erlaubt, als wir durch Stichproben prüfen konnten, daß zum Schein operierte Tiere, denen anstatt Glukagon Kochsalz injiziert wurde, Enzymaktivitäten im gleichen Bereich hatten, wie das nicht operierte Kontrollkollektiv.

Das Gewebe wurde in einem "Potter - Elvehjem - Homogenisator" aus Glas-Teflon homogenisiert mit folgenden Puffern für verschiedene Enzymbestimmungen:

d- Glucosidase

Aqua bidest in der Verdünnung Gewebe / Homogenisat 1 : 100

G-6 - Pase und Phosphorylase (Phosphatfreisetzung)

Saccharose 0,25 M EDTA 0,001 M pH 7,0

Verdünnung: Gewebe / Homogenisat 1 : 100

Glykogensynthetase

Saccharose 0,4 M, EDTA 0,005 M pH 7,0

Verdünnung: Gewebe / Homogenisat 1 : 10

G-6-PDH, 6-P-GDH, PGJ, PGM, F-1,6-DPase, Phosphorylase (G-1-P - Freisetzung)

$\text{Na}_2\text{HPO}_4 / \text{KH}_2\text{PO}_4$ 0,1M EDTA 0,01 M pH 7,3

Verdünnung: Gewebe / Homogenisat 1 : 10

F-6-PK, HK

$\text{Na}_2\text{HPO}_4 / \text{KH}_2\text{PO}_4$ 0,1 M EDTA 0,01 M pH 7,6

Verdünnung: Gewebe / Homogenisat 1 : 10

Der Extrakt wurde 30 Min. lang bei 1950 g und bei + 4° C zentrifugiert, um die großen Partikel zu entfernen.

Die Enzyme wurden im Überstand gemessen.

Protein wurde im Gesamtextrakt nach einer Mikromodifikation der Biuret-Methode bestimmt. (BEISENHERZ, BOLTZE, BÜCHER, CZOK, GABADE, MEYER - ARENDT und PFLEIDERER 1953 (1).)

Die folgenden Enzyme wurden nach dem optischen Test in einem Eppendorf-Fotometer bei 366 oder 334 nm bei 25° C nach standardisierten Methoden gemessen (BÜCHER, LUH, PETTE 1964 (4)).

G-6-PDH: TRA 50 mM, EDTA 5 mM, NADP 1 mM, G6P 2 mM, pH 7,6

6PGDH: TRA 50 mM, EDTA 5 mM, $MgSO_4$ 8 mM, NADP 1 mM,
6 PG 0,6 mM, pH 7,6

PGI: TRA 50 mM, EDTA 5 mM, NADP 0,5 mM, F6P 2 mM,
G6PDH 5 μ g, Ph 7,6

PGM: TRA 50 mM, EDTA 5 mM, $MgSO_4$ 8 mM, NADP 1 mM, Cystein-
chloride 10 mM, G-1,6-P 0,02 mM, G6PDH 5 μ g, pH 7,6

F-1,6-DPase: TRA 50 mM, EDTA 1 mM, $MgSO_4$ 20 mM, NADP 0,5 mM,
Cysteinchloride 5 mM, F-1,6-DP 1 mM, G6PDH 2,5 μ g,
PGI 25 μ g, pH 7,2

Phosphorylase:

TRA 50 mM, EDTA 5 mM, $MgCl_2$ 10 mM, Na_2HPO_4 10 mM,
NADP 0,5 mM, Cysteinchloride 10 mM, AMP 2 mM, G1,
6P 0,2 mM, G6PDH 2,5 μ g, PGM 5 μ g, pH 7,6

F6PK: TRA 50 mM, EDTA 5 mM, $MgSO_4$ 8 mM, KCL 200 mM,
NADH 0,2 mM, ATP 2 mM, KCN 0,03 mM, Ald 50 μ g,
TIM 10 μ g, GDH 1 μ g, F6P 2 mM, pH 7,6

HK: TRA 50 mM, EDTA 5 mM, $MgSO_4$ 8 mM, NADP 1 mM,
Glucose 2 mM, G6PDH 5 μ g, ATP 2 mM, pH 7,6

Glycogen-synthetase wurde nach LELOIR und GOLDEMBERG (22) mit einigen Modifikationen gemessen. Verdünnung: Gewebe / Homogenisat 1 : 10 - 1 : 30. 50 μ l Homogenisat und 450 μ l Substrat 6Tris 50 mM, UDPG 9,5 mM, EDTA 5 mM, Na_2SO_3 20 mM,

G6P 10 mM, Glykogen 1%, pH 8,2) wurden 15 Minuten bei 37° C inkubiert. Die Reaktion wurde durch kochendes Wasser gestoppt. UDP wurde gemessen (TRA 50 mM, EDTA 5 mM, $MgSO_4$ 8 mM, KCL 75 mM, NADH 0,2 mM, PEP 0,8 mM, LDH 25 μ g, PK 10 μ g). Das Enzym wurde mit und ohne G6P gemessen.

Phosphorylase wurde nach CORI in einer Mikromodifikation von HERS (12) gemessen. Das Substratgemisch enthielt G1P 0,1 M, Glykogen 2%, AMP 0,003 M, NaF 0,2 M, pH 6,1. 100 μ l Homogenisat und 100 μ l Substratgemisch wurden bei 37° C inkubiert. Nach 20 und nach 40 Minuten wurde die Reaktion durch TCA 10% gestoppt. Ein Leerversuch lief parallel. Phosphor wurde nach der Methode von FISKE und SUBBAROW (9) mit einem Test-Satz von Merck, Darmstadt, gemessen.

Glucose-6-phosphatase wurde nach HERS (12) gemessen. Gleichlaufend dazu wurde die Aktivität anderer Phosphatasen, die Inaktivierung bei pH 5,0 und die Inkubation mit Beta-glycerophosphat bestimmt. Eine Mischung von 0,1 ml G6P 0,1 M oder 0,1 ml Beta-glycerophosphat 0,1 M (jeweils pH 6,5) und 0,1 ml Leberhomogenisat wurde bei 37° C 60 Minuten lang inkubiert.

Ein anderes Leberhomogenisat (0,1 ml) wurde bei 37° C 5 Minuten lang in 0,01 ml Acetat-Puffer 0,1 M, pH 5,0 vorinkubiert. Dann wurde 0,1 ml G6P pH 6,5 zugegeben und wie oben gemessen. Die Reaktion wurde mit 10% TCA gestoppt. Phosphor wurde gemessen. Die Differenz der Aktivität zwischen dem Meßergebnis mit G6P und Beta-glycerophosphat und das Ergebnis vor und nach dem Inaktivieren bei pH 5,0 ist die spezifische Aktivität der Glucose-6-phosphatase.

α -Glucosidase wurde nach HERS (13) gemessen. 100 μ l Homogenisat wurden mit 100 μ l Na-Acetat-Puffer 50 mM, pH 4,0 und 50 μ l Maltose 10 mg/ml bei 37° C 4 Stunden inkubiert. Ein Leerversuch lief parallel.

Die Reaktion wurde mit PCA 0,33 M in der Verdünnung 1 : 10 gestoppt. Glucose wurde mit HK und G6PDH mit einem Test-Satz von Böhrringer, Mannheim, gemessen.

Alle chemischen Lösungen, die verwendet wurden, stammen von Böhrringer & Söhne, Mannheim, und von Merck AG, Darmstadt.

II. Statistik

Zur statistischen Berechnung diene der zweiseitige Signifikanztest nach MAN und WHITNEY (29). Sein Anwendungsbe-
reich ist gegeben beim Vergleich zweier oder mehrerer
Gruppen von Werten, innerhalb derer keine Normalverteil-
ung der einzelnen Werte entsprechend der Gaußschen Kur-
ve vorhanden ist. Dazu werden die Einzelergebnisse mehrerer,
insgesamt acht Altersgruppen zugeordnet, die 2, 4 oder
6 Tage umfassen und mindestens drei Meßwerte enthalten:

Altersgruppe 1:	15.-16. Fötaltag
" "	2: 17.-18. "
" "	3: 19.-20. "
" "	4: 21.-23. "
" "	5: 1.-4. Lebenstag
" "	6: 5.-8. "
" "	7: 9.-14. "
" "	8: 15.-20. "

Jede Altersgruppe oder Stichprobe von Glukagon behandel-
ten Tieren wird mit der der Kontrolltiere verglichen, wo-
bei die Werte zu einer gemeinsamen Reihe zusammengefaßt
werden und ihrer Größe nach geordnet eine Rangzahl erhal-
ten. Unterscheiden sich die Summen der Rangzahlen beider
Gruppen, wird U bzw. U' entsprechend der Gleichung:

$$U = n_1 \cdot n_2 + \frac{n_1(n_2 + 1)}{2} - R_1 \quad \text{bzw.}$$

$$U' = n_1 \cdot n_2 + \frac{n_2(n_2 + 1)}{2} - R_2 \quad \text{ermittelt,}$$

wobei n_1 der Anzahl der Werte der Glukagongruppe
 n_2 der Anzahl der Werte der Kontrollgruppe
 R_1 der Summe der Rangzahlen der Glukagongruppe
 R_2 der Summe der Rangzahlen der Kontrollgruppe
entspricht.

Der kleinere der beiden Werte U und U' wird gewählt und die Signifikanz an Hand der Tafel für das Gauß'sche Integral beurteilt, wobei im zweiseitigen Test, der eine Abweichung der unter Glukagoneinfluß gemessenen Werte von den Kontrollmeßwerten nach oben und nach unten prüft, $\alpha = 0,05$ entsprechend 5% angenommen wird.

III. Abkürzungsverzeichnis

Ald	Aldolase
AMP	Adenosin-5-monophosphat
ADP	Adenosin-5-di-phosphat
ATP	Adenosin-5-triphosphat
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
F1,6 DP	Fructose-1,6-diphosphat
F1,6 DPase	Fructose-1,6-diphosphatase
F6P	Fructose-6-phosphat
F6PK	Fructose-6-phosphokinase
G1P	Glucose-1-phosphat
G 1,6 DP	Glucose-1,6-diphosphat
G6P	Glucose-6-phosphat
G6Pase	Glucose-6-phosphatase
G6PDH	Glucose-6-phosphat-dehydrogenase
GDH	Glycerin-1-phosphat-dehydrogenase
HK	Hexokinase
KCN	Kaliumcyanid
KCL	Kaliumchlorid
KH_2PO_4	Kalium-dihydrogenphosphat
LDH	Lactat-dehydrogenase
MgSO_4	Magnesiumsulfat
MgCL_2	Magnesiumchlorid
NADH	Nicotinamid-adenin-dinucleotid, reduziert
NADP	Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat
Na_2HPO_4	Di-natrium-hydrogen-phosphat-2-hydrat
Na_2SO_3	Natriumsulfit

NaF	Natriumfluorit
PEP	Phosphoenolpyruvat
6PGDH	6-phosphogluconat-dehydrogenase
6PG	6-phosphogluconat
PGI	Phosphogluco-isomerase
PGM	Phosphogluco-mutase
PK	Pyruvatkinase
TCA	Trichloressigsäure
TIM	Triosephosphat-isomerase
TRA	Triethanolaminhydrochlorid
TRIS	Tris(hydroxymethyl)aminomethan
UDPG	Uridindiphosphoglucose

IV. Versuche und Ergebnisse - Tabellen und Kurven

Zuerst wurde die Aktivität der Enzyme in der normalen Entwicklung des Kohlenhydratstoffwechsels gemessen.

Diese so gewonnenen Werte sind unsere Bezugs- oder Kontrollwerte (25).

Danach wurden sämtliche Enzyme unter Glukagonwirkung gemessen. Die Aktivität der Enzyme wurde ausgedrückt in $\mu\text{moles/g/min}$ Lebergewebe.

Die Normalwerte wurden zu den Glukagonwerten im Computer ins Verhältnis gesetzt und die daraus resultierenden Werte mit Hilfe der Varianzanalyse ausgewertet. In den Tabellen ist der Computermittelwert, die Abweichung von 30% und die Signifikanz aufgetragen. Kurven wurden nur bei Enzymtabellen mit bedeutsamer Signifikanz gezeichnet.

Die Meßwerte wurden in den Tabellen in Gruppen zusammengefaßt, die sich auf die Tage der Entwicklung beziehen.

4 Gruppen pränatal:

15. - 16.Tag, 17. - 18.Tag, 19. - 20.Tag, 21. - 22.Tag

4 Gruppen postnatal:

1. - 4.Tag, 5. - 8.Tag, 9. - 14.Tag, 15. - 20.Tag.

1. Glucose - 6 - phosphatdehydrogenase: (G-6-PDH)

(Tab. 1)

E n z y m: G - 6 - P D H $\mu\text{mol/g/min}$

	Normalwerte			Glucagon			
Tage	n-Anzahl d. Meßwerte	Mittelwert	Abweichung vom M. -15% +15%	n-Anzahl d. Meßwerte	Mittelwert	Abweichung vom M. -15% +15%	Signifikanz
pruenatal							
15-16	n=12	2,71	2,37 2,83	n=3	1,51	1,02 2,19	$\alpha < 2\%$
17-18	n=12	2,7	2,44 2,86	n=7	3,29	2,12 3,57	-
19-20	n=12	2,44	2,35 2,59	n=7	2,58	2,29 3,52	-
21-22	n=12	2,71	2,56 2,78	n=7	2,60	1,85 2,65	-
G e b u r t							
postnatal							
1-4	n=17	2,55	2,41 2,57	n=15	2,60	2,10 2,80	-
5-8	n=16	2,26	2,02 2,42	n=10	2,07	1,77 2,19	-
9-14	n=20	1,82	1,69 1,89	n=14	2,15	2,01 2,40	-
15-20	n=15	1,51	1,51 1,83	n=14	1,45	1,37 1,54	-

und

2. 6-Phosphogluconat - Dehydrogenase (6-P-Glu DH) (Tab. 2)

Die beiden Enzyme des Pentosephosphat - shunt verhalten sich nahezu identisch. Während ihrer normalen Entwicklung sind sie vor der Geburt fast unverändert, nach der Geburt zeigen sie einen Abfall von 30 % bis zum 21. Tag post partum. Unter Glukagonwirkung zeigen die beiden Enzyme, wenn ihre Aktivität auf g Frischgewebe bezogen ist, keine Veränderung. Am 15./16. Fötaltag tritt als rein rechnerische Signifikanz von 2% auf, die wir nicht gelten lassen, weil die Anzahl der Freiheitsgrade (n=3) zu gering ist.

Enzym 6-P-GluDH $\mu\text{mol/g/min}$							
Normalwerte				Glucagon			
Tage	n-Anzahl d. Meßwerte	Mittelwert	Abweichung vom Mw -15% +15%	n-Anzahl d. Meßwerte	Mittelwert	Abweichung vom Mw -15% +15%	Signifikanz
prænatal							
15-16	n=12	2,86	2,81 3,07	n=3	2,14	1,60 2,34	<< 2%
17-18	n=12	2,88	2,59 3,13	n=7	2,73	2,50 2,95	-
19-20	n=12	3,14	3,01 3,29	n=7	3,95	3,61 4,01	-
21-22	n=12	3,87	2,36 3,26	n=7	2,61	2,19 2,72	-
G e b u r t							
postnatal							
1-4	n=17	2,79	2,42 3,13	n=15	3,41	2,85 3,50	-
5-8	n=13	2,23	2,10 2,42	n=10	1,99	1,88 2,23	-
9-14	n=20	1,55	1,53 1,68	n=14	1,62	1,56 2,02	-
15-20	n=18	1,49	1,41 1,58	n=14	1,48	1,35 1,95	-

3. Phosphoglucomutase

(Tab. 3)

die vor der Geburt einen dreifachen Anstieg zeigt und nach der Geburt mit einem leichten Abfall fast kontinuierlich bleibt, hat unter Glukagon keine Wirkung gezeigt. Die Meßwerte liegen in der Neugeborenenperiode wenig oberhalb der Normalmittelwerte und weisen in zwei postnatalen Gruppen (1. - 4. Lebenstag und 15. - 20. Lebenstag) einen Anstieg mit der Signifikanz von 5% bzw. 2% aus.

Enzym P - G - M $\mu\text{mol/g/min}$							
Normalwerte				Glucagon			
Tage	n-Anzahl d. Meßwerte	Mittelwert	Abweichung vom MW -15% +15%	n-Anzahl d. Meßwerte	Mittelwert	Abweichung vom MW -15% +15%	Signifikanz
prænatal							
15-16	n=12	24,0	22,0 40,9	n=3	31,8	17,0 33,7	-
17-18	n=12	39,82	37,15 49,40	n=7	17,75	15,15 21,50	-
19-20	n=12	68,67	63,90 81,20	n=7	80,60	73,60 83,60	-
21-22	n=6	84,36	76,70 88,80	n=7	58,90	56,50 75,50	-
Geburt							
postnatal							
1-4	n=17	91,90	84,93 97,75	n=15	106,00	97,70 113,00	$\alpha < 5\%$
5-8	n=13	88,20	82,00 96,20	n=10	94,50	81,00 109,00	-
9-14	n=18	90,37	85,55 96,00	n=14	96,55	91,00 110,00	-
15-20	n=15	96,95	83,40 95,40	n=14	111,5	111,00 120,00	$\alpha < 2\%$

4. Die Phosphoglucocisomerase (Tab. 4)

verhält sich ähnlich. Man sieht vor der Geburt einen leichten Anstieg ihrer Aktivität, nach der Geburt einen leichten Abfall. Die Messung des Enzyms mit Glukagon hat in der 3. Gruppe pränatal und in der 1. Gruppe postnatal einen signifikanten Anstieg ergeben. Insgesamt gesehen beträgt die Aktivierung durch Glukagon etwa eine Erhöhung um das $1^{1/2}$ -fache.

E n z y m P - G - I								$\mu\text{mol/g/min}$
Normalwerte				Glucagon				
Tage	n-Anzahl d. Meßwerte	Mittelwert	Abweichung vom Mw -15% +15%	n-Anzahl d. Meßwerte	Mittelwert	Abweichung vom Mw -15% +15%	Signifikanz	
prænatal								
15-16	n=12	42,35	36,20 45,50	n=3	28,30	25,20 42,40	-	
17-18	n=12	41,51	40,41 46,50	n=7	46,40	31,95 55,50	-	
19-20	n=12	47,45	47,40 52,25	n=7	68,30	68,10 70,70	$\alpha < 5\%$	
21-22	n=12	46,55	37,90 52,45	n=7	45,00	37,10 51,50	-	
G e b u r t								
postnatal								
1-4	n=17	48,15	46,66 48,85	n=15	64,00	55,90 68,20	$\alpha < 2\%$	
5-8	n=13	50,50	47,20 52,90	n=10	43,10	36,10 44,00	-	
9-14	n=14	47,60	46,15 50,60	n=19	47,95	42,80 55,20	-	
15-20	n=15	47,00	42,10 56,80	n=14	43,15	38,40 49,00	-	

5. Fruktose-1,6-Diphosphatase

(Tab. 5)

steigt im Normalversuch um das 10-fache vor der Geburt an. In den ersten Tagen nach der Geburt sieht man nochmals einen Anstieg um das etwa 10-fache. Die Messungen unter Glukagon haben keine Abweichungen ergeben, lediglich in der 4. Gruppe post partum (15.-22.Lebenstag) ist eine signifikante Erhöhung der Werte um etwa 25% zu verzeichnen.

E n z y m F - 1,6 - DPase $\mu\text{mol/g/min}$							
Normalwerte				Glucosegon			
Tage	n-Anzahl d. Meßwerte	Mittelwert	Abweichung von Mw -15% +15%	n-Anzahl d. Meßwerte	Mittelwert	Abweichung von Mw -15% +15%	Signifikanz
pränatal							
15-16	n=12	0,27	0,23 0,31	n=3	0,25	0,11 0,30	-
17-18	n=12	0,24	0,23 0,26	n=7	0,30	0,28 0,30	-
19-20	n=12	0,52	0,43 0,60	n=7	0,60	0,55 0,60	-
21-22	n=12	1,26	1,14 1,31	n=7	0,80	0,70 1,06	-
G e b u r t							
postnatal							
1-4	n=17	6,06	4,92 6,63	n=15	7,20	6,50 8,00	-
5-8	n=13	8,34	7,95 8,49	n=10	9,35	8,40 10,10	-
9-14	n=17	7,56	7,28 7,58	n=14	6,95	6,80 10,40	-
15-20	n=18	6,51	5,44 6,92	n=14	6,45	6,30 8,90	$\alpha < 2\%$

6. Fruktose - 6 - Phosphat-Kinase (Tab. 6)

zeigt im Normal- wie im Glukagonversuch keine großen Schwankungen. Glukagon aktiviert zwischen 19. und 20. Fötaltag etwa um das Doppelte. Die Signifikanz in der ersten pränatalen Gruppe (15.-16.Fötaltag) liegt unterhalb des 2% - Niveaus und wird nicht verwertet, weil nur drei Meßwerte vorliegen.

E n z y m: F6P - K μmol/g/min							
Normalwerte				Glucagon			
Tage	n-Anzahl d. Meßwerte	Mittelwert	Abweichung vom MW -15% +15%	n-Anzahl d. Meßwerte	Mittelwert	Abweichung vom MW -15% +15%	Signifikanz
prænatal							
15-16	n=12	1,49	1,19 1,83	n=3	3,11	2,05 3,72	$\alpha < 5\%$
17-18	n=12	1,63	0,72 1,84	n=7	2,49	2,07 2,93	-
19-20	n=12	1,63	1,58 1,90	n=7	3,34	3,15 3,53	$\alpha < 2\%$
21-22	n=12	1,88	1,76 1,98	n=7	2,51	2,40 2,56	-
G e b u r t							
postnatal							
1-4	n=17	2,31	1,74 2,55	n=15	2,62	2,47 3,00	-
5-8	n=13	2,22	2,20 2,53	n=10	1,69	1,60 1,90	-
9-14	n=18	1,88	1,77 2,22	n=14	1,87	1,75 2,29	-
15-20	n=15	1,52	1,51 1,93	n=14	1,73	1,68 2,10	-

7. Hexokinase

(Tab. 7)

fällt kontinuierlich bis zu einem Fünftel des gemessenen Wertes vom 15. Fötal bis zum 21. Tag nach der Geburt ab. Ihre Aktivität ändert sich unter Glukagoneinfluß zwischen 19. und 20. Fötaltag ebenfalls etwa um das Doppelte. Die genauen Meßwerte ergaben eine Signifikanz auf dem 5% - Niveau in der 3. Gruppe prä- und postnatal.

E n s y m: Hexokinase $\mu\text{mol/g/min}$							
Normalwerte				Glucagon			
Tage	n-Anzahl d. Meßwerte	Mittel- wert	Abweichung vom MW -15% +15%	n-Anzahl d. Meßwerte	Mittel- wert	Abweichung vom MW -15% +15%	Signifikanz
pränatal							
15-16	n=10	1,39	1,17 1,49	n=3	1,83	1,81 1,94	-
17-18	n=9	1,52	1,51 1,61	n=7	1,50	1,42 2,03	-
19-20	n=10	1,08	1,06 1,19	n=7	2,73	2,59 2,82	$\alpha < 2\%$
21-22	n=9	1,65	1,51 1,73	n=7	1,34	1,28 1,40	-
G e b u r t							
postnatal							
1-4	n=20	1,07	0,88 1,25	n=15	1,00	0,96 1,30	-
5-8	n=13	0,50	0,40 0,55	n=10	0,67	0,60 0,87	-
9-14	n=18	0,56	0,50 0,67	n=14	0,91	0,77 1,02	$\alpha = 5\%$
15-20	n=15	0,38	0,30 0,53	n=14	0,42	0,40 0,50	-

8. Amylo-1,6 Glucosidase

(Tab. 8)

wurde mit der Methode der Glucoseabspaltung aus PLD gemessen. Unter Glukagoneinfluß treten keine Veränderungen auf. Zwischen 1. und 4.Lebenstag wird die Aktivität von 0,9 $\mu\text{mol/g/min}$ auf 0,61 $\mu\text{mol/g/min}$ erniedrigt. Zwischen dem 5. und 14.Lebenstag zeigt sich keine Wirkung. Zwischen dem 15. und 20.Lebenstag ist wieder eine Erniedrigung der Aktivität um etwa 25% festzustellen.

E n z y m: Amylo - 1,6 Glucosidase $\mu\text{mol/g/min}$							
Normalwerte				Glucagon			
Tage	n-Anzahl d. Meßwerte	Mittelwert	Abweichung von M. -15% +15%	n-Anzahl d. Meßwerte	Mittelwert	Abweichung von M. -15% +15%	Signifikanz
p r a e n a t a l							
15-16	n=9	0,07	0,03 0,11	n=3	0,05	0,04 0,05	-
17-18	n=10	0,15	0,13 0,17	n=7	0,07	0,06 0,14	-
19-20	n=10	0,36	0,24 0,45	n=7	0,17	0,13 0,22	-
21-22	n=10	0,43	0,37 0,53	n=7	0,38	0,32 0,44	-
G e b u r t							
p o s t n a t a l							
1-4	n=20	0,90	0,87 0,93	n=15	0,61	0,56 0,80	$\alpha < 2\%$
5-8	n=17	0,95	0,92 0,99	n=10	1,03	0,80 1,14	-
9-14	n=20	1,15	1,12 1,24	n=14	1,03	1,00 1,17	-
15-20	n=20	1,22	1,14 1,37	n=14	0,93	0,90 1,12	$\alpha < 5\%$

9. Die lysosomale α -Glucosidase (Tab. 9) wurde bisher in ihrer Entwicklung noch nicht verfolgt. Das Enzym wurde gemessen, weil bei seinem Nichtvorhandensein Glykogenanhäufungen entstehen können. Die Messungen zeigen einen raschen Anstieg vom letzten Fötaltag zu den ersten Tagen nach der Geburt.

Unter Glukagoneinfluß haben sich die Meßwerte nicht geändert.

E n z y m: α - Glucosidase $\mu\text{mol/g/min}$							
Normalwerte				Glucagon			
Tage	n-Anzahl d. Meßwerte	Mittelwert	Abweichung vom MW -15% +15%	n-Anzahl d. Meßwerte	Mittelwert	Abweichung vom MW -15% +15%	Signifikanz
pränatal							
15-16	n=12	0,115	0,080 0,120	n=3	0,08	0,05 0,09	-
17-18	n=12	0,165	0,130 0,190	n=7	0,120	0,06 0,21	-
19-20	n=12	0,220	0,200 0,250	n=7	0,200	0,170 0,270	-
21-22	n=12	0,175	0,160 0,220	n=7	0,220	0,160 0,230	-
G e b u r t							
postnatal							
1-4	n=17	0,470	0,400 0,490	n=15	0,460	0,410 0,510	-
5-8	n=13	0,350	0,330 0,560	n=10	0,450	0,400 0,470	-
9-14	n=18	0,455	0,390 0,510	n=14	0,545	0,540 0,650	-
15-20	n=15	0,380	0,340 0,470	n=14	0,370	0,330 0,400	-

10. Glucose-6-Phosphatase

(Tab. 10)

Aktivität ist erst ab dem 16.Tag des Fötallebens meßbar. Dann steigt die Aktivität kurz vor der Geburt und kurz nach der Geburt um das 10-fache und fällt bis zum 21.Tag leicht ab.

Glukagon aktiviert erst kurz vor der Geburt, am 21. und 22.Fötaltag. Die Signifikanz ist wegen der großen Streuung in den hier größeren Gruppen nur 5%.

E n z y m: G - 6 - P a s e $\mu\text{mol/g/min}$							
Tage	Normalwerte			Glucagon			Signifikanz
	n-Anzahl d. Meßwerte	Mittelwert	Abweichung vom MW -15% +15%	n-Anzahl d. Meßwerte	Mittelwert	Abweichung vom MW -15% +15%	
p r a e n a t a l							
15-16	n=12	0,05	0,0 0,04	n=3	0,8	0,0 0,89	-
17-18	n=12	0,25	0,24 0,45	n=7	0,0	0,0 3,5	-
19-20	n=12	0,34	0,31 0,66	n=8	0,53	0,36 1,20	-
21-22	n=12	1,16	0,60 1,91	n=7	6,17	3,55 8,30	$\alpha = 5\%$
G e b u r t							
p o s t n a t a l							
1-4	n=17	21,10	18,35 22,40	n=15	15,00	14,90 16,60	-
5-8	n=13	10,40	10,20 17,80	n=10	19,32	17,40 20,60	-
9-14	n=18	18,92	17,00 22,40	n=14	19,40	16,55 22,20	-
15-20	n=14	13,30	9,28 14,00	n=15	16,11	12,80 17,55	-

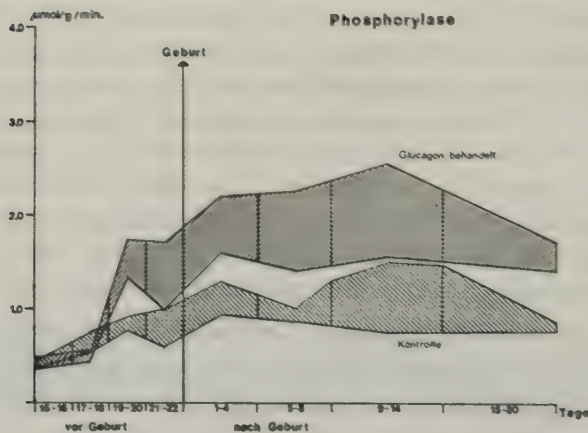
11. Phosphorylase

wurde nach zwei unterschiedlichen Methoden gemessen in Hinsicht auf Glykogenabbau und Glykogensynthese. Der Normalversuch brachte Ergebnisse, die sich sehr ähnlich sind. Mit der Methode der Phosphatfreisetzung (Tab. 11) nach HERS (Glykogensynthese) fand man einen zweifachen Anstieg vor der Geburt, einen nochmaligen zweifachen Anstieg vom letzten Tag vor der Geburt bis zu den ersten Tagen in der Neugeborenenperiode. Mit der Methode der G-1-P-Freisetzung (Abb.1, Tab.12) (Glykogenabbau) erzielte man die gleichen Aktivitäten. Im Glukagonversuch liegen die Meßwerte bei der Methode der Phosphatfreisetzung eher niedriger als die dazugehörigen Normalwerte. Bei der Methode nach dem optischen Test mit G-1-P-Freisetzung liegen die Meßwerte oberhalb der Normalwerte. Man sieht einen deutlichen Anstieg der Phosphorylaseaktivität unter Glukagoneinfluß. Die hier gemessene Phosphorylase bezieht sich also auf die aktive Form des

E n z y m : Phosphorylase $\mu\text{mol/g/min}$ Phosphatfreisetzung							
Tage	Normalwerte			Glucagon			Signifikanz
	n-Anzahl d. Meßwerte	Mittelwert	Abweichung vom M.W. -15% +15%	n-Anzahl d. Meßwerte	Mittelwert	Abweichung vom M.W. -15% +15%	
praenatal							
15-16	n=12	6,32	4,92 6,48	n=7	10,30	4,20 13,20	-
17-18	n=12	7,78	5,98 9,36	n=7	6,71	5,30 6,80	-
19-20	n=12	11,56	10,87 14,87	n=7	11,90	11,60 13,60	-
21-22	n=12	13,10	12,67 13,75	n=7	15,00	12,30 18,50	-
G e b u r t							
postnatal							
1-4	n=17	22,30	18,87 23,45	n=15	21,10	16,80 25,50	-
5-8	n=13	20,50	17,16 22,65	n=10	15,65	13,22 20,20	-
9-14	n=15	19,34	17,75 22,20	n=14	17,30	16,90 18,40	-
15-20	n=15	19,40	16,72 23,50	n=14	18,40	17,10 20,95	-

Enzyms, das wir in der Kuvette mit AMP gemessen haben.

Eine Aktivierung in vivo findet erst nach dem 19.Fötaltag statt und ist bis zum 20.Lebenstag nachweisbar. Allerdings ist die Aktivierung nur auf dem 5% -Niveau statistisch signifikant.



Enzym: Phosphorylase $\mu\text{mol/g/min}$
G - I - P - Freisetzung

Normalwerte

Glucagon

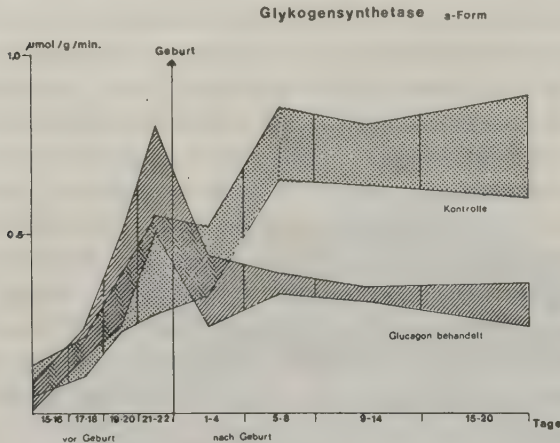
Tage	n-Anzahl d. Meßwerte	Mittelwert	Abweichung vom MW -15% +15%	n-Anzahl d. Meßwerte	Mittelwert	Abweichung vom MW -15% +15%	Signifikanz
Normalwerte							
Glucagon							
prenatal							
15-16	n=12	0,37	0,37 0,43	n=3	0,42	0,38 0,50	-
17-18	n=12	0,63	0,53 0,76	n=7	0,54	0,44 0,56	-
19-20	n=12	0,83	0,77 0,92	n=7	1,34	1,34 1,73	$\alpha < 2\%$
21-22	n=12	0,92	0,60 1,04	n=7	1,70	0,97 1,71	$\alpha < 5\%$
G e b u r t							
postnatal							
1-4	n=17	1,14	0,94 1,29	n=15	1,80	1,59 2,20	$\alpha < 2\%$
5-8	n=13	0,91	0,87 1,08	n=10	2,09	1,40 2,25	$\alpha < 2\%$
9-14	n=15	1,13	0,75 2,18	n=14	1,55	1,55 1,89	$\alpha < 5\%$
15-20	n=15	0,80	0,75 0,86	n=14	1,52	1,40 1,70	$\alpha < 2\%$

12. Glykogensynthetase

Es wurde die Gesamt-Glykogensynthetase mit 10 mM G-6-P (Tab. 13) gemessen und deren aktive Form ohne G-6-P. Man fand keine Änderung in der Aktivität zwischen dem 15. und 17.Fötaltag; ab 18.Tag stieg die Aktivität leicht und kontinuierlich an. Im Glukagonversuch liegen die Meßwerte bei der Gesamt-Glykogensynthetase unter den Normalwerten. Kurz vor der Geburt sieht man eine Erniedrigung. Vom 1. - 14.Lebenstag bleibt die Aktivität unverändert und nimmt vom 15.Lebenstag bis zum 20.Lebenstag in seiner Aktivität um 50% ab. Der Meßwert kurz vor der Geburt fällt deutlich aus den anderen Werten, sowohl in Bezug auf die Normalwerte als auch in Bezug auf die Glukagonwerte heraus. Hier liegt möglicherweise ein Fehler in der Versuchsanordnung oder Durchführung vor. Eine eindeutige Wirkung des Glukagons auf die aktive Form der Glykogensynthetase (Tab. 14, Abb. 2) ist festzustellen.

E n z y m Glykogensynth. gesamt µmol/g/min mit G - 6 - P							
Tage	Normalwerte			Glucagon			Signifikanz
	n=Anzahl d. Meßwerte	Mittelwert	Abweichung vom M. -15% +15%	n=Anzahl d. Meßwerte	Mittelwert	Abweichung vom M. -15% +15%	
pränatal							
15-16	n=12	0,56	0,48 0,64	n=3	0,06	0,04 0,5	$\alpha < 5\%$
17-18	n=12	0,82	0,70 0,94	n=7	0,26	0,10 0,27	-
19-20	n=12	2,44	2,35 2,65	n=7	2,58	2,39 2,70	-
21-22	n=12	2,96	1,47 3,72	n=7	2,72	2,59 2,82	-
G e b u r t							
postnatal							
1-4	n=17	3,54	2,85 4,26	n=15	2,70	2,50 2,80	-
5-8	n=13	3,03	2,65 3,37	n=10	2,32	2,16 2,03	-
9-14	n=18	2,28	1,95 2,78	n=14	2,22	2,11 2,43	-
15-20	n=15	2,11	2,09 2,40	n=	1,01	0,99 1,16	$\alpha < 2\%$

Die Aktivität nimmt signifikant vom 21. Fötaltag an ab. Die Inaktivierung vom 1. - 4. Lebenstag liegt statistisch unterhalb des 5% - Niveaus, vom 5. - 20. Lebenstag unterhalb des 2% - Niveaus. Diese Verschiebung der aktiven a-Form zur inaktiven b-Form wird noch deutlicher, wenn man die a-Form als Prozent der Gesamt-Glykogensynthese berechnet.



Enzym Glykogensynth. a) aktive Form $\mu\text{mol/g/min}$
ohne G - 6 - P

Normalwerte				Glucagon				Signifikanz
Tage	n-Anzahl d. Meßwerte	Mittelwert	Abweichung vom MW -15% +15%	n-Anzahl d. Meßwerte	Mittelwert	Abweichung vom MW -15% +15%		
pränatal								
15-16	n=12	0,08	0,07 0,09	n=3	0,02	0,01 0,08	-	
17-18	n=12	0,14	0,10 0,16	n=7	0,20	0,16 0,24	-	
19-20	n=12	0,63	0,50 0,74	n=7	0,40	0,24 0,50	-	
21-22	n=12	0,31	0,37 0,55	n=7	0,50	0,50 0,80	-	
G e b u r t								
postnatal								
1-4	n=17	0,61	0,49 0,70	n=15	0,36	0,27 0,44	$\alpha < 5\%$	
5-8	n=13	0,56	0,46 0,64	n=10	0,35	0,33 0,38	$\alpha < 2\%$	
9-14	n=18	0,68	0,64 0,76	n=14	0,32	0,31 0,35	$\alpha < 2\%$	
15-20	n=15	0,81	0,70 0,88	n=14	0,26	0,24 0,33	$\alpha < 2\%$	

Die folgende Tabelle gibt den Prozentgehalt der a-Form von der Gesamt-Glykogensynthetase unter Glukagonwirkung an.
n.s. = nicht signifikant.

Tabelle 15

Gruppe	Gesamt-Glykogensynthetase			% a-Form		
	Kontr.	Glukagon	Signif.	Kontr.	Glukagon	Signif.
1	0,56	0,06	n.s.	14 %	33 %	n.s.
2	0,82	0,25	n.s.	17 %	76 %	n.s.
3	2,44	2,58	n.s.	26 %	15 %	n.s.
4	2,96	2,72	n.s.	10 %	29 %	n.s.
Geburt						
1	3,54	2,70	n.s.	17 %	13 %	5 %
2	3,03	2,32	n.s.	18 %	15 %	2 %
3	2,28	2,22	n.s.	30 %	14 %	2 %
4	2,11	1,01	2 %	38 %	26 %	2 %

Diese Meßergebnisse sind Ausdruck der Umwandlung der aktiven a-Form in die inaktive b-Form der Glykogensynthetase. Aus der Tabelle 15 ist zu entnehmen, daß vor der Geburt der Prozentsatz der a-Form in der Glukagongruppe von der Kontrollgruppe nicht signifikant verschoben ist. Wegen der großen Streubreite der Einzelwerte vor der Geburt ist ein scheinbarer Unterschied festzustellen, der aber nicht signifikant ist. Nach der Geburt nimmt die a-Form prozentual ab. Die Unterschiede liegen in der ersten postnatalen Gruppe unterhalb des 5%-Niveaus, in den anderen Gruppen unterhalb des 2%-Niveaus.

C) DISKUSSION

I. Ergebnisse eigener Versuche in Bezug zu anderen Arbeiten über Glukagonwirkung in der fötalen Rattenleber

Am Beginn unserer Arbeit haben wir Ergebnisse erwartet, die mit unseren Versuchsergebnissen nur in einigen Punkten übereinstimmten. Unsere Vermutung, daß auch beim Föten die Aktivierung der Phosphorylase über cycl. AMP in Gang kommt und gleichzeitig die Glykogensynthese gehemmt wird, fanden wir nur für die Phosphorylase bestätigt, die bei uns als Gesamtphosphorylase mit AMP gemessen ab 19. Fötaltag zu aktivieren war (Tab. 12 Abb.Nr. 1).

Eine Erniedrigung der aktiven Glykogensynthetase vor der Geburt haben wir in unseren Messungen nicht beobachtet. Die von uns erwartete Wirkung des Glukagons auf die Glykogensynthetase tritt in unserer Versuchsreihe erst nach der Geburt auf. Es findet ein Wechsel von der aktiven in die inaktive Form des Enzyms statt. Unter Glukagoneinwirkung nahm die aktive a-Form ab, was Ausdruck für die Umwandlung in die b-Form ist, während die Gesamtglykogensynthetase im wesentlichen konstant blieb. Unsere Ergebnisse, daß die Phosphorylase erst am 19. Fötaltag zu aktivieren ist, die Glykogensynthetase vor der Geburt aber keine Aktivierung zeigt, sind möglicherweise durch Entwicklungscharakteristika der Adenylcyclase zu erklären, die das cycl. AMP entstehen läßt (26).

Die Adenylcyclase der Leber beginnt erst vier Tage vor der Geburt ihre Aktivität zu steigern und hat bei der Geburt ihren Erwachsenenepfkel erreicht. Die gleichzeitig bestehende hohe Aktivität der Phosphodiesterase weist auf einen niedrigen Spiegel von cycl. AMP hin.

Wir finden aber keine Erklärung dafür, warum die Glykogensynthetase zwischen 18. und 22. Fötaltag nicht inakti-

viert werden kann, zu einer Zeit also, in der die Adenylcyclase schon aktiv ist.

Die Protein-Kinase, die die Glykogensynthetase inaktiviert, ist ebenfalls schon aktiv, denn sie wird zur Aktivierung der Phosphorylase benötigt. Unsere Untersuchungen stimmten mit denen HUNTERS (17) überein, der ebenfalls ein weit stärkeres Ansprechen im Blutglucoseanstieg und im Leberglykogenabfall auf Glukagoninjektion am 22. Fötaltag als am 19. Fötaltag fand. Als zusätzliche Erklärung für den Abfall des Glykogenspiegels in der Fötalleber nach Glukagonabgabe drei Tage vor der Geburt könnte man die Aktivierung der Glucose-6-Phosphatase ansehen. Bei uns war die G-6-Pase am 21. und 22. Fötaltag durch Glukagon erhöht. Die Glucose-freisetzung aus Leberglykogen ist aber nur gewährleistet, wenn gleichzeitig G-1-P aus Glykogen entsteht. GREENGARD und DEWEY (11) konnten ebenfalls eine Aktivierung der G-6-Pase durch Glukagon und gleichzeitig einen Abfall des Leberglykogens erreichen. Sie stellten jedoch fest, daß Ethionin und Aktinomycin D das Auftreten von G-6-Pase verhindern, nicht jedoch den Glykogenabbau. Daraus zogen sie den Schluß, daß der Glykogenabbau nicht kausal in Beziehung mit der Erhöhung der G-6-Pase steht.

Wir wollen aber noch folgende andere Interpretierung in Betracht ziehen. Glukagon wirkt in der fötalen Leber möglicherweise auf zwei verschiedene Arten.

1. Es setzt die Neusynthese eines Enzyms in Gang,
2. Es aktiviert ein schon gebildetes, aber noch inaktives Enzym.

Diese Theorie sehen wir dadurch erhärtet, daß Glukagon prämaturnicht nur die Glykolyse, sondern auch die Glucoseogenese stimuliert. Folgende Unterschiede könnte man als Beweis dafür ansehen:

1. Phosphorylase, ein glykogenolytisches Enzym ist vor der Geburt auch ohne Glukagongabe schon meßbar.

2. Phosphopyruvat-Carboxylase, Schlüssel-Enzym für die Gluconeogenese, ist normalerweise erst nach der Geburt meßbar, ebenso die Tyrosinaminotransferase und die Serindehydratase (34, 36). Prä matur können diese Enzyme durch Glukagon, cycl. AMP-Gaben oder durch frühzeitige Entbindung aktiviert werden, ihre Aktivierung durch Injektion von Aktinomycin D jedoch verhindert werden.

Die Glukagonaktivierung der Phosphorylase beim Föten zu hemmen, wurde bisher noch nicht unternommen. Man hat aber Versuchsergebnisse darüber, daß der physiologische Phosphorylaseanstieg drei Stunden nach der Geburt durch Aktinomycin D und Puromycin nicht zu verhindern ist.

Hexokinase und Fruktose - 6-Phosphat-Kinase werden durch Glukagon vor der Geburt am 19. und 20. Fötaltag in ihrer Aktivität etwa um das Doppelte erhöht. Phosphoglucoisomerase wird ebenfalls nur am 19. und 20. Fötaltag erhöht, während Amylo-1,6-Glucosidase an diesen beiden Tagen erniedrigt wird. Auch PGI wird am 19. und 20. Fötaltag erhöht, aber zeigt noch einen zusätzlichen Anstieg am 1. - 4. Lebenstag um den gleichen Betrag. Wir spekulieren, daß die gemeinsame Aktivitätserhöhung dieser vier Enzyme und die Erniedrigung der Amylo-1,6-Glucosidase möglicherweise mit der Erhöhung der Corticosteroide (11, 13) im Plasma des Föten zusammenhängt.

Physiologischerweise findet die Aktivierung von Hexokinase, F-6-PK und Amylo-1,6-Glucosidase zwischen dem 18. und 20. Lebenstag statt. Zu dieser Zeit ist der Plasmacorticosteronspiegel 3,5 mal höher als zwischen dem 20. und 22. Fötaltag. Vor dem 18. Fötaltag konnte bisher wegen methodischer Schwierigkeiten noch kein Plasmacorticosteron gemessen werden. Die hohe fötale Plasmacorticoidkonzentration kann nicht von den Muttertieren stammen, da dieser nur $\frac{1}{10}$ der Fötenkonzentration beträgt, obwohl die Tiere in der Schwangerschaft höhere Werte als sonst haben. Wenn wir einen Vergleich zu

den Erkenntnissen über die Aminosäure-Enzyme gelten lassen, könnten wir vermuten, daß die Enzymaktivierung durch eine kombinierte Wirkung der beiden Hormone Glukagon und Hydrocortison ausgelöst wird (5, 14, 15).

Tyrosin-Aminotransferase und Serindehydratase lassen sich ebenfalls erstmals am 19. Fötaltag aktivieren (34).

Tyrosin-Aminotransferase ist durch Hydrocortison oder Triamcinolon allein in der Fötalzeit nicht zu aktivieren, sondern nur, wenn es zusammen mit Glukagon verabreicht wird (36).

II. Zusammenfassung

Die Leber von insgesamt 50 trächtigen Ratten, 500 Rattenföten und 60 neugeborenen Ratten wurde zu Versuchszwecken verwandt. Aus jeweils einer Leber wurden folgende Enzyme bestimmt: Glucose-6-phosphat-dehydrogenase, 6 Phosphoglucolat-Dehydrogenase, Phosphoglucumutase, Phosphoglucoisomerase, Fruktose-1,6-Diphosphatase, Fruktose-6-Phosphatkinase, Hexokinase, Amylo-1,6-Glucosidase, α -Glucosidase, glucose-6-Phosphatase, Phosphorylase, Glykogensynthetase.

Zuerst wurde die Aktivität der Enzyme in der normalen Entwicklung des Kohlenhydratstoffwechsels gemessen. Danach wurden sämtliche Enzyme unter Glukagonwirkung gemessen. Aus den unterschiedlichen Werten ergeben sich folgende Daten.

Keine nennenswerte Aktivitätsveränderung bei Glukagongabe zeigten die beiden Enzyme des Pentosephosphat-shunt: die Glucose-6-phosphat-dehydrogenase und die 6-Phosphoglucolat-Dehydrogenase, ebenso die lysosomale α -Glucosidase und die Phosphoglucumutase, deren geringe Signifikanz in der Neugeborenenperiode nicht von Bedeutung ist.

Dagegen zeigt die Phosphoglucoisomerase eine deutliche Aktivierung im Glukagonversuch: eine Erhöhung ihrer Aktivität um das $1\frac{1}{2}$ fache. Die Amylo-1,6-Glucosidase wird zwischen dem 15. und 20. Fötaltag unter Glukagon erniedrigt. Die Fruktose-1,6-Diphosphatase verhält sich im Glukagonversuch wie im Normalversuch, außer in der Gruppe vom 15. bis 22. Lebenstag. In dieser Gruppe erhöhen sich die Werte um etwa 25 %. Die Fruktose-6-Phosphat-Kinase wird von Glukagon zwischen 19. und 20. Fötaltag um das Doppelte erhöht. Der Einfluß von Glukagon auf die Hexokinase ergibt eine Signifikanz in der 3. prä- und postnatalen Gruppe, die sich auf dem 5% -Niveau befindet. Aus dem Vergleich zu den Erkenntnissen der Aminosäureenzyme läßt sich vermuten, daß die Aktivierung dieser Enzyme durch eine kombinierte Wirkung der Hormone Glukagon und Hydrocortison zustande kommt.

Die Glucose-6-Phosphatase wird erst kurz vor der Geburt, am 21. und 22. Fötaltag von Glukagon aktiviert. Dazu muß gesagt werden, daß durch diese Reaktion eine Freisetzung von Glucose und die damit verbundene Senkung des Glykogenspiegels nur möglich ist, wenn gleichzeitig Glucose-1-Phosphat aus Glykogen entsteht. Die Phosphorylase wurde nach zwei unterschiedlichen Methoden gemessen. Im Normalversuch ergeben sich bei beiden Methoden nahezu identische Werte. Anders im Glukagonversuch. Bei der Methode der Phosphatfreisetzung, die dem Glykogenabbau Rechnung trägt, sind die Glukagonwerte zum Teil gleich, zum Teil unbedeutend niedriger als die dazugehörigen Normalwerte. Bei der Methode mit G-1-P-Freisetzung in Richtung auf Glykogensynthese steigen die Aktivitäten im Glukagonversuch deutlich an. Die hier gemessene Phosphorylase bezieht sich auf die aktive Form ihres Enzyms. Die Glykogensynthetase wurde als Gesamt-Glykogensynthetase und als deren aktive Form gemessen. Auf die Gesamt-Glykogensynthetase ist im Glukagonversuch keine eindeutige Änderung in der Aktivität festzustellen. Unsere Messungen haben lediglich eine Wirkung auf ihre aktive Form gezeigt, die andeutet, daß ein Wechsel von der aktiven in die inaktive Form stattfindet. Die Wirkung drückt sich in einer deutlichen Aktivitätsabnahme vom 21. Fötaltag an beginnend aus. Das heißt, daß in unserem Versuch die Wirkung des Glukagons auf die Glykogensynthetase erst in der Geburt einsetzt, nicht wie wir vermutet haben, gleichzeitig mit der Aktivierung der Phosphorylase.

Bestätigt fanden wir in unserer Arbeit nur ein teilweises Ansprechen von Glukagon auf die von uns untersuchten fötalen und postnatalen Enzyme des Glykogenstoffwechsels.

III. Literaturverzeichnis

1. Beisenherz, G., Boltze, H.J., Bücher, Th., Czok, R., Gabade, K.H., Meyer-Arendt, E., Pfeleiderer, G.:
Diphosphofructose-Aldolase, Phosphoglyceraldehyd-Dehydrogenase, Milchsäure-Dehydrogenase, Glycerophosphat-Dehydrogenase und Pyruvat-Kinase aus Kaninchenmuskel in einem Arbeitsgang.
Z.Naturforsch. 8b: 555 (1963)
2. Birnbaumer, L., Pohl, St., Rodbell, M.:
The glucagonsensitive adenylate cyclase system in plasma membranes of rat liver.
J.biol.Chem. 247: 2038 (1972)
3. Britton, S.W., Kline, R.F.:
Age, sex, carbohydrate, adrenal-cortex and other factors in anoxia.
Am.J.Physiol. 145: 190 (1945)
4. Bücher, Th., Luh, W., Pette, D.:
In: Hoppe-Seyler/Thierfelder, Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse.
10. Aufl., Bd. VI a, S. 292. Springer, Berlin 1964
5. Cake, M.H., Yeung, D., Oliver, I.T.:
The control of postnatal hypoglycemia.
Biol. Neonate 18: 183 (1971)
6. Cake, M.H. and Oliver, I.T.
The activation of phosphorylase in neonatal rat liver: Europ.J.biochem. 11: 576 (1969)
7. Chez, R., Mintz, D., Horger, E., Hutchinson, D.:
Factors affecting the response to insulin in the normal subhuman pregnant primate.
J.clin.invest. 49: 1517 (1970)
8. Sutherland, E.W., Cori, C.F.:
Effect of hyperglycemic-glykogenolytic factor and epinephrine on liver phosphorylase.
J.biol.Chem. 188 (1951)
9. Fiske, C.H., Subbarow, J.:
The colorimetric determination of phosphorus.
J.biol.Chem. 66: 375 (1925)

10. Girard, J., Bal, D., Assan, R.:
Glucagon secretion during the early postnatal period in the rat.
Horm.Metab.Res. 4: 1968 (1972)
11. Greengard, O., Dewey, H.:
The premature deposition of lysis of glycogen in livers of fetal rats injected with hydrocortisone of glucagon.
J.biol.Chem. 21: 452 (1970)
12. Hers, H.G.:
Glycogen storage disease.
Adv.Metab.Disorders 1: 1 and 335 (1964)
13. Hers, H.G.:
L-Glucosidase deficiency in generalized glucogen storage disease (Pompe's disease).
Biochem.J. 86: 11 (1963)
14. Hers, H.G., Lejeune N., Thines-Sempoux, D.:
Tissue fractionation studies. Intracellular distribution and properties of L-glucosidase in rat liver.
Biochem.J. 86: 17 (1963)
- 14 A. Hers, H.G., De Wulf, H., Stalmans, W.:
The control of glycogen metabolism in the liver.
Lab.de Chemie Physiologique, Université de Louvain, Belgium. Febsletters, 12: 2 (1970)
15. Holt, P.G., Oliver, I.T.:
Factors affecting the premature induction of tyrosine aminotransferase in foetal rat liver.
Biochem.J. 108: 333 (1968)
16. Holt, P.G., Oliver, I.T.:
Plasma cortocosteron concentrations in the perinatal rat.
Biochem.J. 108: 339 (1968)
17. Hunter, D.J.S.:
Changes in blood glucose and liver carbohydrate after intra uterine injection of glucagon in to foetal rats.
J.Endocr. 45: 367 (1969)

18. Jacquot, R., Kretschmar, N.:
Effect of fetal decapitation on enzymes of glycogen metabolism.
J.biol.Chem. 239: 1301 (1964)
19. Johnston, S.R., Bloom, D.R., Greene, K.R., Beard, R.W.:
Failure of the human placenta to transfer pancreatic glucagon.
Biol.Neonate 21: 375 (1972)
20. Jost, A.:
In: Harvey lectures, 1959.
Academic Press, New York (1961), p. 201
21. Lawrence, A.M.:
Radioimmunoassayable glucagon levels in man: effects of starvation, hypoglycemia and glucose administration.
Proc.Nat.Acad.Sci. 55: 316 (1966)
22. Leloir, L.F., Goldemberg, S.H.:
Synthesis of glycogen from uridine-diphosphate glucose in liver.
J.biol.Chem. 235: 919 (1960)
23. Rall, T.W., Sutherland E.W., Berthet, J.:
The relationship of epinephrine and glucagon to liver phosphorylase.
J.Biol.Chem. 224 (1957)
24. Samols, E., Marri, G., Marks, V.:
Promotion of insulin secretion by glucagon.
Lancet 2: 415 (1965)
25. Schaub, J., Gutmann, I., Lippert, H.:
Developmental changes of glycolytic and gluconeogenic enzymes in fetal and neonatal rat liver.
Horm.Metab.Res. 4: 110 (1972)
26. Schaub, J. and Becker, I.:
The effect of glucagon on the development of glycogen phosphorylase and glycogen synthetase in rat liver.
Biochimica et Biophysica Acta. BBA 21341 (1972)

27. Stafford, A., Weatherall, I.A.C.:
The survival of young rats in nitrogen.
J.Physiol., Lond. 153: 457 (1960)
28. Unger, R.H.:
New ideas concerning the physiologic roles of glucagon.
Americ.Journal of the Medical Sciences, 255: 5 (1968)
29. Weber, E.:
Grundriß der biolog. Statistik VEB
Gustav Fischer Verlag Jena (1964)
30. Yeung, D., Oliver, I.T.:
Factors affecting the premature induction of phosphopyruvate carboxylase in neonatal rat liver.
Biochem.J. 108: 325 (1968)
31. Yeung, D., Oliver, I.T.:
Induction of phosphopyruvate carboxylase in neonatal rat liver by AMP.
Biochem.J. 7: 3231 (1968)
32. Greengard, O.:
Enzymic differentiation in mammalian liver.
J.biol.Chem. 242 (1969)
33. Greengard, O., Dewey, H.:
The developmental formation of liver glucose 6-phosphatase and reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate dehydrogenase in fetal rats treated with thyrosine and glucagon.
J.Biol.Chem. 213: 10 (1968)
34. Greengard, O., Dewey, H.:
Initiation by glucagon of the premature development of thyrosine aminotransferase, serine dehydratase and glucose-6-phosphatase in fetal rat liver.
J.biol.Chem., 242: 12 (1967)
35. Greengard, O., Dewey, H.:
The developmental formation of liver glucose 6-Phosphatase and reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate dehydrogenase in fetal treated with thyrosine.
J.biol.Chem., 213 (1968)

36. Holt, P.G., Oliver, I.T.:
Studies on the mechanism of induction of tyrosine aminotransferase in neonatal rat liver.
J.biol.Chem. 8 (1969)
37. Felix, J.M., Sutter, M.T., Sutter, B.Ch.J., Jacquot, R.:
Circulating insulin and tissular reactivity to insulin in the rat during the perinatal period.
Horm.Metab.Res.: 3 (1971)
38. Taunton O.D., Stifel, F.B., Greene, H., Herman, R.:
Rapid reciprocal changes of rat hepatic glycolytic enzymes and fructose-1,6-diphosphatase following glucagon and insulin injection in vivo.
Biochem.Research, 48: 6 (1972)
39. Rodbell, M., Birnbaumer, L., Pohl, S.L.:
Characteristics of glucagon action on the hepatic adenylate cyclase system.
Biochem.J., 125; 3: 58 (1971)
40. Roger, H., Unger, M.D.:
Glucagon physiology and pathophysiology.
New England J. 285 (1971)
41. Lawrence, A.M.:
Glucagon in medicine: New ideas for an old hormone.
Med.Clinics of N.Am. 54: 1 (1970)
42. Bitensky, M.W., Russell, V., Robertson, W.:
Evidence for separate epinephrine and glucagon responsive adeny cyclase systems in rat liver.
Biochem.Research, 31: 5 (1968)
43. Sutherland, E.W., Cori, C.F.:
Effect of hyperglycemic glycogenolytic factor and epinephrine on liver phosphorylase.
J.biol.Chem. 188 (1951)
44. Eisenstein, A., Strack, J.:
Effects of glucagon on carbohydrate synthesis and enzyme activity in rat liver.
Endocrinology 83: 1337 (1968)
45. Friedmann, N., Exton, J.H., Park, C.R.:
Interaction of adrenal steroids and glucagon on gluconeogenesis in perfused rat liver.
Biochem.Research, 29: 1 (1967)

46. Sokal, J.E.:
Effect of glucagon on gluconeogenesis by the isolated perfused rat liver.
Endocrinology 78: 539 (1966)
47. Glinzmann, W., Pauk, G., Hern, E.:
Control of rat liver glycogen synthetase and phosphorylase activities by glucose.
Biochem.Research 39: 4 (1970)
48. Guder, W., Fröhlich, J., Patzelt, C., Wieland, O.:
The effect of glucagon on the state of lysosomal enzymes in isolated perfused rat liver.
FEBS Letters 10: 4 (1970)
49. Rohr, H., Aderes, C., Bianchi, L.:
Ultrastructural morphometric study on rat liver cells after glucagon treatment.
Beitr.Path. Bd. 141: 313 (1970)
50. Csányi, V., Greengard, O., Knox, E.:
The inductions of tyrosine aminotransferase by glucagon and hydrocortisone.
J.Biol.Chem. 242: 11 (1967)
51. Reshef L. and Greengard, O.:
Effect of amino acid mixtures insulin, epinephrine and glucagon in vivo on the levels of rat liver tyrosine aminotransferase.
Enzym.biol.clin. 10 (1969)
52. Weintraub, B., Sarcione, E., Sokal, J.E.:
Effect of glucagon on phosphorylase activity of the isolated perfused liver.
Am.J.of Physiology, 216: 3 (1969)
53. Williamson, J.R., Herczeg, B., Coles, H., Danish, R.:
Studies on the ketogenic effect of glucagon in intact rat liver.
Biochem.Research. Com. 24: 3 (1966)
54. Struck, E., Ashmore, J., Wieland, O.:
Stimulierung der Gluconeogenese durch langkettige Fettsäuren und Glucagon.
Biochem. Zeitschrift 343: 107 (1965)

55. Garcia, A., Williamson, J., Cahill, G.:
Effect of glucagon on gluconeogenesis.
Diabetes 15: 3 (1966)
56. Exton, J., Jefferson, L., Butcher, R., Park, Ch.R.:
The effects of fasting, alloxan diabetes, glucagon, epinephrine, adenosine 3,5-monophosphate and insulin.
Amer.J.Med. 40 (1966)
57. Kalant, N.:
The effect of glucagon on metabolism of glycine-1-C11.
J.Biochem. and Biophysics 65: 469 (1956)
58. Steiner, D.F., Rauda, V., Williams, R.:
Effects of insuline, glucagon and glucocorticoids upon hepatic glycogen synthesis from uridine-diphosphate glucose.
J.biol.Chem. 236: 2 (1961)
59. Exton, J.H., Park, C.R.:
The stimulation of gluconeogenesis from lactate by epinephrine glucagon and cyclic 3,5-adenylate in the perfused rat liver.
Pharmacol.Review. 18: 1 (1966)
60. Sutherland, E.W., Wosilait, W.:
The relationship of epinephrine an glucagon to liver phosphorylase.
J.B.C. 218: 483 (1956)
61. Root, M.A.:
Effect of chronic administration of glucagon to rats and rabbits.
Proc.Soc.Biol.Med. 87: 108 (1954)
62. Izzo, J., Glasser, St.:
Comparative effects of glucagon, hydrocortisone and epinephrine on the protein metabolism of the fasting rat.
Endocrinology, 68: 2 (1961)
63. Levey, G., Schmidt, W., Mintz, D.:
Activation of adenyl cyclase in a pancreatic islet cell adenoma by glucagon and tolbutamide.
Metabolism, XXI: 2 (1972)

64. Schimassek , H., Mitzkat, H.J.:

Über eine spezifische Wirkung des Glucagon auf die
Embden-Meyerhof-Kette in der Leber.
Biochem. Zeitschrift 337: 510 (1963)

65. Wörner, H. und Weinges, K.F.:

Über den Einfluß von Insulin und Glukagon auf den
Glucosestoffwechsel des epididymalen Fettanhangs
der Ratte in vivo.
Klin.Wochenzeitschrift 39: 5 (1961)

66. Weinges, K.F.:

Der Einfluß von Glukagon und Insulin auf den Stoff-
wechsel der nicht veresterten Fettsäuren am iso-
lierten Fettgewebe der Ratte in vivo.
Klin. Wochenzeitschrift 39: 5 (1961)

Meinen besonderen Dank möchte ich Herrn Privatdozent Dr. Jürgen Schaub für die freundliche Überlassung des Themas sowie für die bereitwillige Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit aussprechen.

Mein Dank gilt auch Frau Isabella Gutmann-Becker, die mir als med.techn. Assistentin im experimentellen Stadium meiner Arbeit zur Seite stand.

LEBENS LAUF

Am 14. Dezember 1944 wurde ich in Aussig/Elbe als Tochter des Studienrates Dr. phil. Rudolf Lippert und seiner Ehefrau Eva, geb. Matzner, geboren.

Ich wurde 1950 eingeschult und legte 1964 die Reifeprüfung am Realgymnasium in Icking, das ich 9 Jahre besuchte, ab.

Ich begann mein Medizinstudium im Winter-Semester 1964 an der Ludwig-Maximilians-Universität in München, an der ich nach der ärztlichen Vorprüfung und Prüfung das medizinische Staatsexamen im Sommer 1971 bestand.

Nach meiner Heirat mit dem Augenarzt Dr. Wolfgang Allmaras und nach der Geburt meiner beiden Kinder arbeitete ich als Medizinalassistentin in den Jahren 1973 und 1974.

Die ärztliche Approbation erhielt ich am 2. April 1974.

